

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-255434

(43)Date of publication of application : 07.11.1987

(51)Int.Cl.

A61K 37/18
A61K 9/08
// A61K 35/78

(21)Application number : 61-097411

(71)Applicant : FUJI OIL CO LTD

(22)Date of filing : 26.04.1986

(72)Inventor : TAGAWA KUNIO
KUROSAWA WAHEI

(54) TRANSFUSION SOLUTION OF OLIGOPEPTIDE

(57)Abstract:

PURPOSE: The titled transfusion solution useful as a nutrition supplying agent, capable of being subjected to intravenous infusion in high concentration, containing a mixture of a water-soluble oligopeptide of relatively high polymer as an essential constituent component.

CONSTITUTION: The titled transfusion solution comprising a mixture of a water-soluble oligopeptide having 500W5,000 molecular weight as an essential constituent component.

Existing transfusion solution of amino acid mixture, di- or tripeptide has limitation of an amount of protein to be subjected to intravenous infusion in intravenous infusion because of high osmotic pressure. The mixture of a water-soluble oligopeptide having $\leq 5,000$ molecular weight, containing peptide of relatively high polymer of \geq tripeptide, can provide organisms with a large amount of protein as nutrients while keeping osmotic pressure of transfusion solution at relatively low pressure. The mixture of oligopeptide, for example, is obtained by enzymatically decomposing soybean protein, subjecting the hydrolyzate to molecular-weight fractionation and providing the mixture of the oligopeptide having the molecular weight and economically inexpensive oligopeptides are usable.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-255434

⑤ Int. Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 昭和62年(1987)11月7日
 A 61 K 37/18 8615-4C
 9/08
 // A 61 K 35/78 8413-4C 審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 オリゴペプチド輸液

⑰ 特 願 昭61-97411

⑱ 出 願 昭61(1986)4月26日

⑲ 発 明 者 田 川 邦 夫 茨木市南春日丘7-1-50
 ⑲ 発 明 者 黒 沢 和 平 吹田市佐井寺4-52-7-503
 ⑲ 出 願 人 不二製油株式会社 大阪市南区八幡町6番1
 ⑲ 代 理 人 弁理士 門 脇 清

明 細 書

1. 発明の名称

オリゴペプチド輸液

2. 特許請求の範囲

(1) 分子量500 ~ 5000の水溶性オリゴペプチド混合物を必須構成成分とするオリゴペプチド輸液。
 (2) オリゴペプチド混合物が蛋白の酵素分解物である特許請求の範囲第(1)項記載のオリゴペプチド輸液。

(3) 蛋白が植物性蛋白である特許請求の範囲第(3)項記載のオリゴペプチド輸液。

(4) 植物性蛋白が大豆蛋白である特許請求の範囲第(3)項又は第(4)項に記載のオリゴペプチド輸液。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はオリゴペプチド輸液に関する。更に詳しくは、分子量500 ~ 5000の比較的大きな水溶性オリゴペプチド混合物を必須構成成分とするオリゴペプチド輸液を提供するものである。例えば、大豆蛋白等の植物性蛋白酵素水解物を分画して得

る分子量500 ~ 5000の水溶性オリゴペプチド混合物の輸液を提供するものである。

(従来技術)

従来から、消化器官への栄養補給(経管栄養補給)として、蛋白質、蛋白質の加水分解物、低分子ペプチド(ディ、トリペプチド)、アミノ酸混合物等が報告されている。(Peptide Transport and Hydrolysis, '77, Elsevier-Excerpta Medica-North-Holland発行、特願昭55-94168、特願昭55-94169等)

ところが、消化器官が損傷を受ける等して、経口、経管等による栄養補給が困難な場合、アミノ酸混合物輸液の静脈注入により蛋白補給が行われてきた。近年、アミノ酸に代わり主に合成によるディ、トリペプチド等の低分子ペプチド輸液の静脈注入により蛋白補給も試みられており(Metabolism 22, (2), 103-105, '83)、アミノ酸混合物に対する優位性が開示されている。又、蛋白の酵素水解物に関してはカゼインのペプチドリッチな水解物「アミゲン」の静脈注入の報告(J. Bio. Chem

..166,649-652,'46、Clin.Biochem.,6,(1),46-52,'73等)が幾つかなされている。

しかし、本発明のような比較的高分子のペプチド、特に植物性蛋白の水溶性水解物の分画物の輸液は知られていない。

(発明が解決しようとする問題点)

従来から行われているアミノ酸輸液の静脈注入による蛋白補給においては、①多く補給しようとすると、輸液の浸透圧が高くなり血管を損傷したり、②沈澱を生じやすいアミノ酸(ロイシン、チロシン等)や不安定なアミノ酸(トリプトファン等)の補給が困難であったり、③いくつかのアミノ酸は塩酸塩の状態で使用され輸液のpHを下げ、静脈注入した場合アシドーシスを起こしやすく、④経済的に高価である等の問題を有する。又、ディ、トリペプチド等の低分子ペプチドの輸液においても未だ①から④の問題が十分に解決されたとは言えず、更に改善が要求されている。

又、アミゲンのようなカゼインの水解物を静脈注入すると、⑤水解物のpHが低くアシドーシスを

起こしやすい、⑥遊離アミノ酸、ディペプチド等の低分子ペプチドを多く含む為浸透圧が高くなり血管損傷を起こしやすい等の問題点を有する。

(問題を解決する為の手段)

本発明者等は前記①から④及び⑥、⑦の問題を解決すべく鋭意研究するなかで、意外にも従来検討されなかったトリペプチド以上の比較的高分子のペプチドを含む分子量5000以下の水溶性オリゴペプチド混合物が⑥遊離アミノ酸やディ、トリペプチド等の低分子物質を殆ど含まず、輸液の浸透圧を著しく高くすることなく、⑦沈澱を生じやすいアミノ酸や不安定なアミノ酸をペプチドの中に入れても、沈澱や分解を生ずることなく、⑧輸液のpHを下げる事が極めて少なくアシドーシスを起こす恐れが殆ど無く、⑨天然蛋白、特に植物性蛋白から酵素分解により安価に得ることができ、⑩静脈栄養補給において速やかに吸収され、尿中排泄も認められない知見を得て本発明を完成するに至った。

即ち、本発明は分子量500～5000の水溶性オリ

ゴペプチド混合物を必須構成成分とするオリゴペプチド輸液である。

本発明輸液のオリゴペプチド混合物は水溶性であり、分子量が500～5000、好ましくは500～3000が適当である。

オリゴペプチド混合物が不溶性であると輸液の静脈注入の際に詰る等して好ましくない。

又、分子量が5000を越えると生体内で抗原抗体反応を起こし好ましくない。

従来知られているアミノ酸混合物やディ、トリペプチド輸液は静脈注入の際その浸透圧が高いことから、静脈注入できる蛋白量に限界があったものを、本発明の輸液利用による栄養補給法においては、アミノ酸やディ、トリペプチド以上の分子量(通常500以上)を有するオリゴペプチド混合物を用いることにより、血管内に於ける浸透圧を比較的低く保ったままで大量の蛋白質を生体に栄養補給できる効果を有する。

本発明輸液のオリゴペプチド混合物は合成によるものでなく蛋白の酵素分解物が適当である。合

成によるものは、トリペプチド以上の合成は工業的にも困難を伴い高価である。蛋白は自然に存在する蛋白原料、例えば、卵白、カゼイン等の動物性蛋白、大豆蛋白、小麦蛋白等の植物性蛋白、微生物蛋白等、或いはこれらのプラスティン等の修飾蛋白等を用いることができる。原料の入手の容易性、経済性等から植物性蛋白特に大豆蛋白は好適である。

蛋白の酵素分解法は公知の方法を用いることができる。即ち、蛋白を公知の酵素を用いて、酵素分解し、分子量分画して分子量500～5000の水溶性画分をえることができる。例えば、特願昭60-281685、特願昭60-95166等の方法が好ましい。

例えば、大豆蛋白(大豆から得られる蛋白全てを含み、アルブミン系、グロブリン系等を含む)を用いるオリゴペプチド混合物の製造法の一例を示すと次のようになる。

大豆蛋白を酵素分解し、水解物を分子量分画して分子量500～5000のオリゴペプチド混合物を得ることができる。

酵素分解に用いる酵素の種類は特に限定しないが、遊離アミノ酸の生成の少ないエンド型プロテアーゼが、又中和による塩生成や得られるペプチド混合物を中性に保つ等の観点より中性プロテアーゼが好ましい。

酵素分解の態様は、用いる酵素に作用温度、作用pH域でよく、2種以上の酵素を組み合わせたり、多段酵素分解したり、固定化酵素による連続水解等公知の水解法を用いることができる。

得られる酵素分解物を分子量分画することが重要である。分子量分画することにより遊離アミノ酸やディ、トリ等の低分子ペプチドを除去し、輸液として利用するペプチド混合物の浸透圧を低くすることができる。分子量分画はゲル濾過、限外濾過、RO（逆浸透圧濃縮）等の物理化学的手段、エタノール、アセトン等の有機溶剤による手段等公知の分画手段を用いて分子量500～5000のオリゴペプチド混合物を得ることができる。

得られるオリゴペプチド混合物を必須構成成分とする輸液を静脈へ注入することができる。オリ

ゴペプチド混合物の濃度は、輸液の浸透圧が2000mOsm/l以下の濃度になる量用いることができる。例えば、分子量500～3000の大豆蛋白酵素分解ペプチドの場合約20%溶液もの高濃度でもその浸透圧を300mOsm/l程度と低く保つことができる。

因にアミノ酸混合物の場合約3%溶液で約300mOsm/lの浸透圧となる。従って、本発明のオリゴペプチド混合物を必須構成成分とするオリゴペプチド輸液は高濃度静脈注入が可能な利点を有する。

又輸液のpHは、血液のpH程度が適当であり通常6.5～7.5程度がアシドーシスを起こしにくく適当である。

又輸液の利用態様は注射、点滴等の静脈注入が好ましい。勿論、静脈注入の際糖やビタミン等の栄養源、その他の薬剤等と併用することは自由である。又、アミノ酸パターンを調節する為のアミノ酸やディ、トリペプチド等を必要量併用することは自由である。アミノ酸混合物単独やディ、トリペプチド単独等の低分子輸液に比べ、本発明の輸液は浸透圧が低いので比較的大量の蛋白を補給

できる。又、沈澱性アミノ酸や不安定なアミノ酸もオリゴペプチドのなかに含んで補給できる効果がある。

又、本発明の輸液は分子量500～5000の水溶性オリゴペプチド混合物を粉体等の固体状で用いて使用時に輸液の形にしたり、適当な濃度の輸液の形にしたりして用いる等、その利用態様は自由である。

(実施例)

以下実施例により本発明の実施態様を説明する。

実施例1

(オリゴペプチド混合物の調製)

分離大豆蛋白製造工程で得られた大豆ホエー（水分96.8%、蛋白19.3%）をUF膜（分画分子量2000）を用いて濃縮して得た大豆ホエー蛋白（蛋白85%／乾物）の10%溶液1ℓを塩酸を用いてpH1.5に調製し、ペプシン0.1gを加え37℃で5時間酵素分解し、中和後80℃で10分加熱し酵素失活させUF膜（旭化成製SEP1013膜：分画分子量3000MW）を用いて高分子蛋白をカットし、得られた濾

液をRO膜（ダイセル化学製RO膜：分画分子量500）を用いて低分子蛋白をカットして得られた濃縮液を噴霧乾燥して26gのオリゴペプチド混合物を得た。

(得られたオリゴペプチド混合物の静脈注入)

健康SD系雌ラット（麻酔下）（体重：200g、年齢：10週齢）に前記オリゴペプチド混合物の5%溶液を輸液として用い、135分間に計9ℓになるように点滴による静脈注入し、点滴開始後より0～30分の間、30～60分の間、60～120分の間、120～300分の間に分けて採尿を行った。又、点滴終了直後及び15分後の2回採血し血清を分離した。

次に、逆相高速液体クロマトグラフィー（SHIMPACK CLC005：φ6mm×15cm：島津製）を用いて前記採取各尿及び血清中のオリゴペプチド量を測定した。

（尚、逆相高速液体クロマトグラフィーの条件は、トリフルオロ酢酸：アセトニトリル系において3%～27% linear gradient chromatography：流速1ℓ／分：検出220nmの条件にて行った。）

以上より、第1図にオリゴペプチド混合物輸液の逆相高速液体クロマトグラフィーパターン（以下HPLCパターン）を示す。

第2図に血清のHPLCパターンを示す。

第3図にオリゴペプチド混合物輸液静脈注入終了後15分後の採取血清のHPLCパターンを示す。

第6図に5%オリゴペプチド混合物輸液1mlと血液4mlを混合し37℃で60分incubateしたときの血清HPLCパターンを示す。オリゴペプチドが血液中で分解されないことがわかる。

第1図、第2図及び第3図より、オリゴペプチド混合物輸液が静脈注入された後吸収され血液中に殆ど検出されないことがわかった。

第4図に尿のHPLCパターンを示す。

第5図にオリゴペプチド混合物輸液静脈注入開始後60分-120分間の採取尿のHPLCパターンを示す。

これらHPLCパターンを利用して尿中に排泄されたオリゴペプチドを計算した結果を表-1に示す。
（以下余白）

表-1 尿中ペプチド排泄量（単位：mg）

※1	0～30	30～60	60～120	最終回収%
5%P	0	12.3	27.1	9.5 %

但し、※1は点滴開始後の時間の間隔（分）を示す。5%Pは、オリゴペプチド混合液5%輸液を注入したときの尿中ペプチド排泄量（単位：mg）を表す。

表-1より、静脈注入されたオリゴペプチド混合物輸液のわずか9.5%が尿中に排泄されたにすぎないことがわかる。従って、比較的高分子のオリゴペプチドが腎臓において殆ど排泄されず生体内に速やかに吸収されることが分かった。

（効果）

以上説明したように、従来せいぜいトリペプチド程度の低分子オリゴペプチド輸液までの静脈注入による栄養補給しか知られてなかったものを、本発明によりテトラペプチド以上のオリゴペプチ

ドを含む分子量5000以下の水溶性オリゴペプチド混合物を必須構成成分とするオリゴペプチド輸液の静脈注入による栄養補給が可能になったものであり、従来アミノ酸混合輸液、低分子オリゴペプチド輸液の持つ諸問題を解決し、①輸液の浸透圧を高くすることなく、②血中で分解や沈澱を生ずることなく、③安定して栄養補給が可能になったものであり、又④経済的に安価なオリゴペプチドを利用することが可能になったものである。

又、カゼインの水解物（例えばアミゲン）に比べても前記①他の優位性を有し、植物性蛋白原料も利用できることによりより経済的である。

4. 図面の簡単な説明

第1図はオリゴペプチド混合物輸液の逆相高速液体クロマトグラフィーパターン（以下HPLCパターン）を示す図面である。

第2図は血清のHPLCパターンを示す図面である。

第3図はオリゴペプチド混合物輸液静脈注入終了後15分後の採取血液のHPLCパターンを示す図面である。

第4図は尿のHPLCパターンを示す図面である。

第5図はオリゴペプチド混合物輸液静脈注入開始後60-120分間の採取尿のHPLCパターンを示す図面である。

第6図は5%オリゴペプチド混合物輸液1mlと血液4mlを混合し37℃で60分incubateしたときの血清のHPLCパターンを示す図面である。

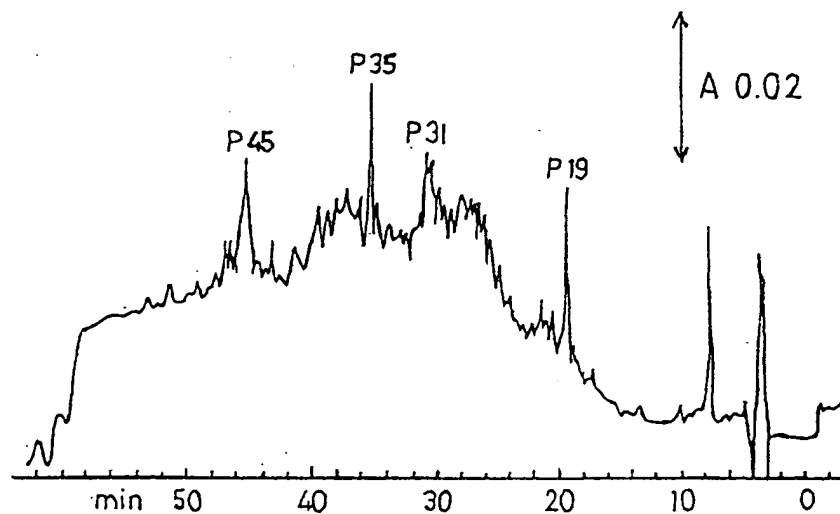
特許出願人 不二製油株式会社

代理人 弁理士 門脇 清

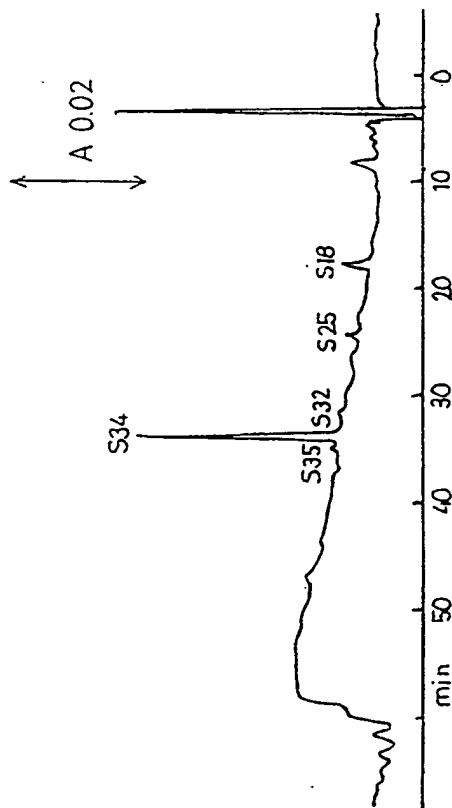


第1図

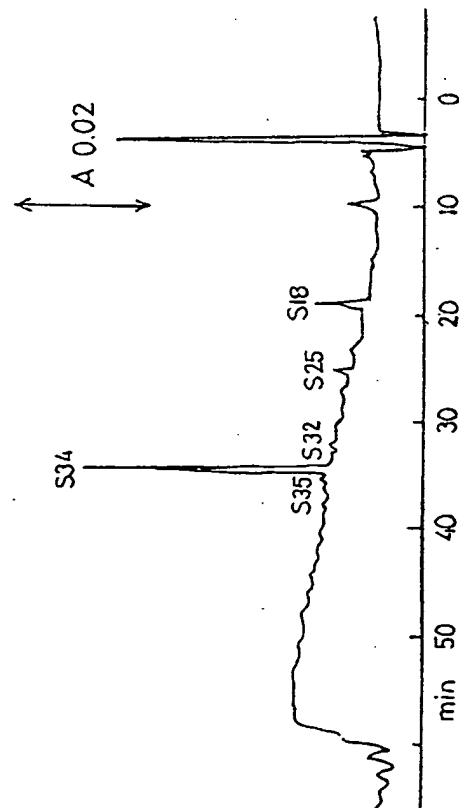
図面の浄書(内容に変更なし)



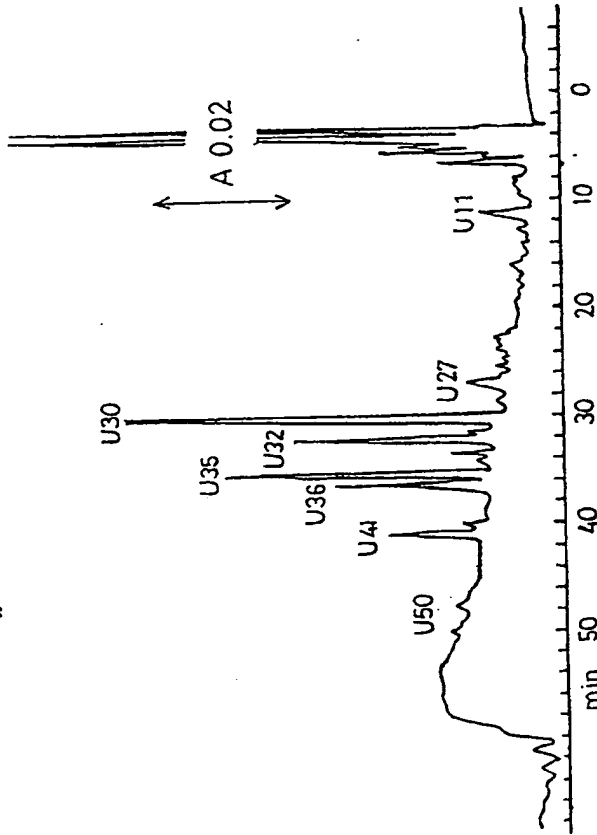
第2図



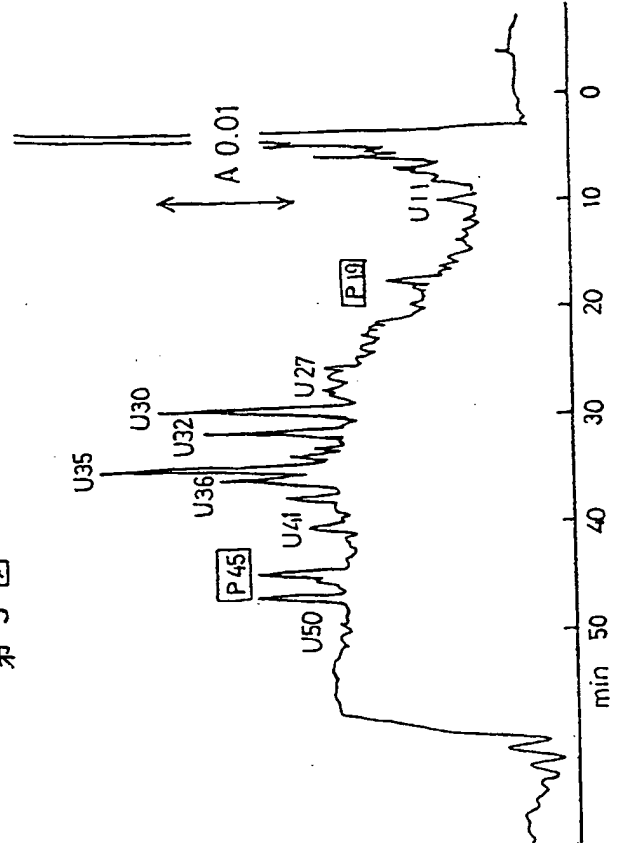
第3図



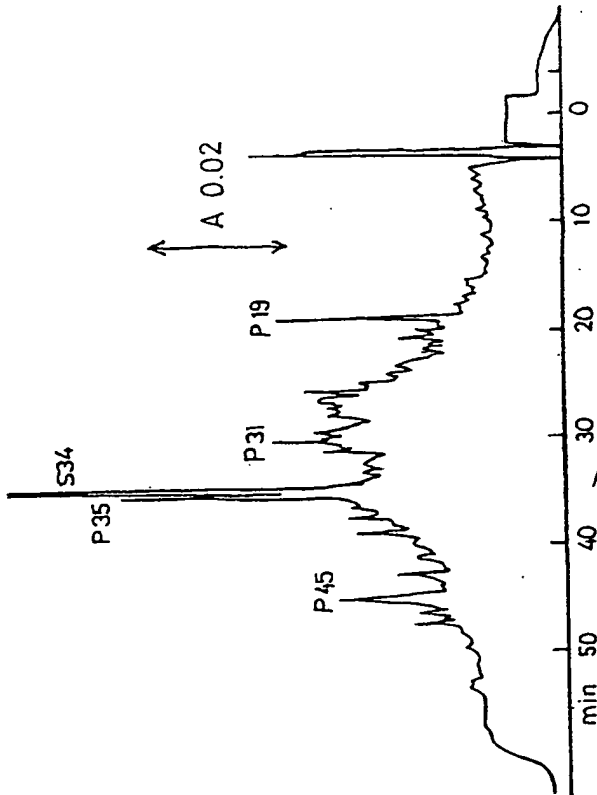
第4図



第5図



第6図



手続補正書(自発)

昭和61年05月01日

特許庁長官 宇賀道郎 殿

1. 事件の表示 昭和61年4月26日出願の特許願

2. 発明の名称 オリゴペプチド輸液

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 大阪市南区八幡町6番1

名 称 不二製油株式会社

代表者 久 本 浩一郎

4. 代理人 532

大阪市淀川区東三国1丁目32番12号

リビース新御堂606号

(6294)弁理士 門脇 清

電 06-395-2714

5. 補正により増加する発明の数 無し

6. 補正の対象 明細書の特許請求の範囲の欄及び発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容

別紙のとおり。

明細書第7頁第6行「・・・用いる酵素に作用温度・・・」とあるを「・・・用いる酵素の作用

温度・・・」と訂正する。

「別紙」

2. 特許請求の範囲

- (1) 分子量500 ~ 5000の水溶性オリゴペプチド混合物を必須構成成分とするオリゴペプチド輸液。
(2) オリゴペプチド混合物が蛋白の酵素分解物である特許請求の範囲第(1)項記載のオリゴペプチド輸液。
(3) 蛋白が植物性蛋白である特許請求の範囲第(3)項記載のオリゴペプチド輸液。
(4) 植物性蛋白が大豆蛋白である特許請求の範囲第(3)項に記載のオリゴペプチド輸液。

手続補正書(方式)

昭和61年7月3日

特許庁長官 宇賀道郎 殿

1. 事件の表示

特開昭61-97411号

2. 発明の名称

オリゴペプチド輸液

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 大阪市南区八幡町6番1

名 称 不二製油株式会社

代表者 久 本 浩一郎

4. 代理人

住所 大阪市淀川区東三国1丁目32番12号

リビース新御堂606号

氏名(6294) 弁理士 門 脇 清

06-395-2714

5. 補正命令の日付(発送日)昭和61年6月24日

6. 補正の対象

図面

方式
一 査

7. 補正の内容

願書に最初に添付した図面(全図)を別紙の通り(内容に変更なし)鮮明に描いて補正する。

